

補助事業番号 2018M-140

補助事業名 平成30年度マイクロ流体を応用した非接触型ピンセットの開発補助事業

補助事業者名 大阪工業大学 工学部 機械工学科 講師・横山 奨

## 1 研究の概要

本申請ではマイクロ流体を応用した非接触型のスフェロイド操作技術を提案する。マイクロスケール(流路径が100ナノメートルから数100マイクロメートル)の流体では、レイノルズ数が非常に小さくなることで、流れは乱流にならず層流が常に維持される。そのため、通常では不可能な高精度な流体制御が可能となる。非接触型マイクロ流体ピンセットには、3本の並行ノズルを用いる。左右2本のノズルは液体を吸引し、細胞スフェロイドを引き寄せる。中央のノズルは液体を吐出することで、細胞スフェロイドのノズルへの接触を防止する。通常のスケールでは乱流が発生し、細胞スフェロイドの位置を制御することは困難であるが、マイクロ流体では層流が維持されるため、吸引と吐出の流量比を制御することで、スフェロイドの位置を固定・保持・制御することが可能となる。非接触型マイクロ流体ピンセットを用いることで、より高機能発現した細胞スフェロイドを自在に操作することが可能となり、3次元の臓器製造に大いに貢献することが期待できる。

## 2 研究の目的と背景

再生医療の実用化を目標とした人工臓器の研究は、基礎から開発、産業化まで米国を中心に熾烈な競争が繰り広げられている。この人工臓器の製造に必要不可欠な技術の一つが、細胞の3次元培養技術である。3次元培養技術とは、通常はシャーレなどの平面で培養されていた細胞を立体的に培養する技術であり、3次元の構造物である臓器を構築する上での必須技術と言える。これまでに、多くの提案がなされているが、近年特に注目が集まっているのが細胞スフェロイド(cell spheroid)を用いた3次元培養技術である。細胞スフェロイドとは、細胞同士が集合・凝集化した球状の細胞集合体であり、スフェロイド内部には、生体類似構造が再構築されており、一般的に利用されている2次元単層培養法よりも高機能発現を長期的に維持できることが知られている。これを応用し、細胞スフェロイドを事前に作製し、その細胞スフェロイドを3次元的に積層することで迅速に3次元の臓器や血管を構築する技術が研究・提案されている。

その一方で、細胞スフェロイドには物理的接触に極めて脆弱であるという欠点がある。細胞スフェロイドは、多数の細胞を浮遊した状態で培養し、細胞同士の緩やかな接触・相互接着を通じて形成される。そのため、細胞スフェロイド自体は極めて脆弱であり、ピンセットなどの物理的固定方法で操作することは極めて困難である。

### 3 研究内容

#### (1) マイクロ流体を応用した非接触型ピンセットの開発

(<https://www.oit.ac.jp/oitp/introduction/detail25.html>)

マイクロ流体を応用した非接触型ピンセットのコンセプトを確認するために、よりシンプルな単一ノズルの試作品を設計、試作した。シリンジポンプMFS-SP(図1左)とマイクロビーズを購入するとともに、Intensilightファイバー光源(図1右)を購入、顕微鏡を改修して蛍光観察による非接触型ピンセット内部流動の可視化を可能とした。

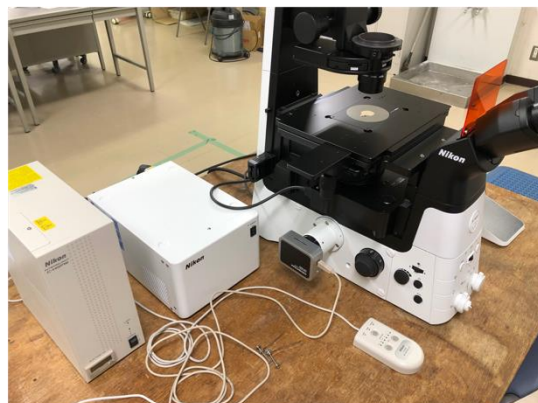


図1 シリンジポンプMFS-SP1(左)、Intensilightファイバー光源および顕微鏡(右)

非接触型ピンセットを試作し、上述のシリンジポンプとマイクロビーズを用いて機能評価を実施した。

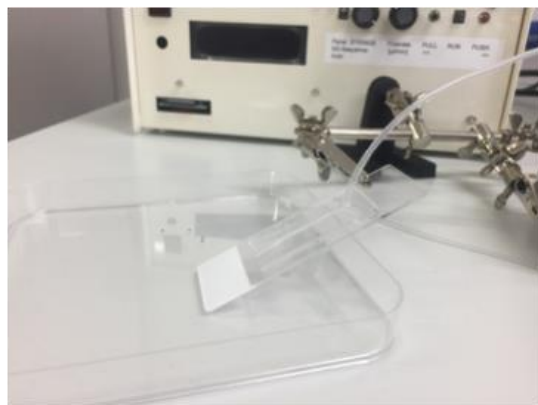
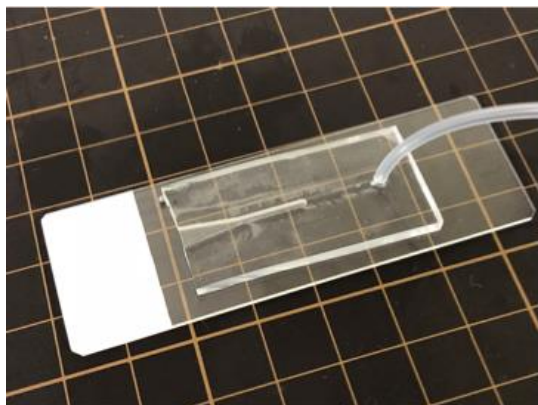


図2 試作した非接触型ピンセット(左)、機能評価実験(右)

汎用解析ソフトウェアであるCOMSOL Multiphysics (Ver5.3a, COMSOL) を用いて、非接触型ピンセットのノズル形状の最適化検討を実施した(図3)。ノズル角度ごとに流体解析を行い、最適なノズル形状と流量を調査した。

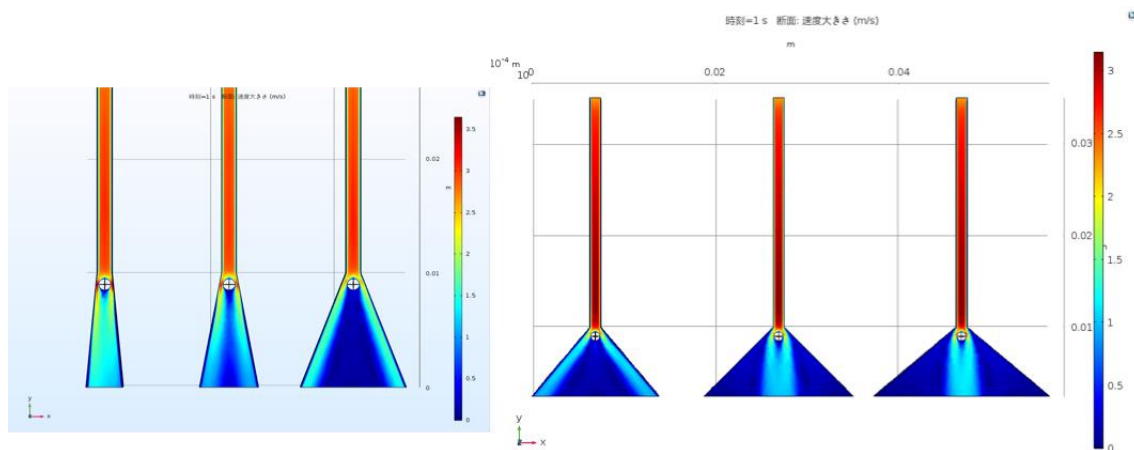


図3 非接触型ピンセット内の流体解析結果

流体解析の結果に基づき、改良型接触型ピンセット試作品を作製した（図4左）。上述のIntensilightファイバー光源および顕微鏡、蛍光試薬を用いた内部流動の可視化実験を行い流体解析と同様の流動が実現できていることを確認した（図4右）。

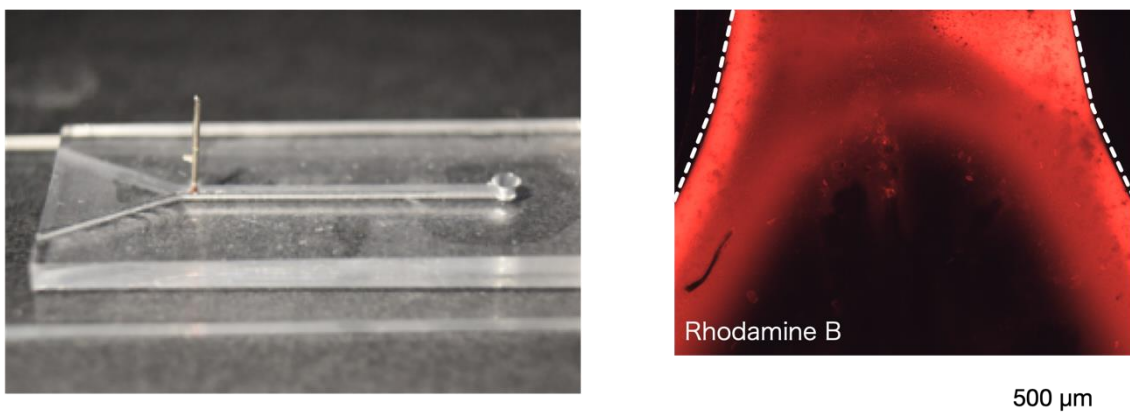


図4 改良型接触型ピンセット試作品（左）、内部流動の可視化実験結果（右）

#### 4 本研究が実社会にどう活かされるか—展望

マイクロ流体を応用し、直接対象物に触れることなく、マイクロオーダーの対象物を保持・固定・移動可能な非接触型マイクロ流体ピンセットを開発する。再生医療に向けた人工臓器の研究では、細胞スフェロイドに対して非侵襲的に保持・操作が可能な手段が求められている。物理的接触に極めて脆弱な細胞スフェロイドの操作が可能なピンセットを開発することで、3次元臓器製造に新たなツールを提供する。非接触型ピンセットという概念は一般的ではないが、細胞スフェロイド以外にも微小なビーズの操作をはじめとして多くの分野への応用が期待できる。

#### 5 教歴・研究歴の流れにおける今回研究の位置づけ

申請者はこれまでも、マイクロ流体デバイスを用いた高度な細胞培養環境の構築に取り組んで

きた。これまでの研究では、主に研究者向けのツールとしての細胞培養用マイクロ流体デバイスの開発を実施してきた。本研究ではこれまでの研究で得られた知見を最大限活用し、実際の医療現場や産業現場において使用可能なマイクロ流体デバイスを目指して研究開発を行った。このような新たな研究展開を可能にする機会をいただいた公益財団法人JKAの多大なるご支援に対して感謝申し上げます。

6 本研究にかかわる知財・発表論文等

該当なし

7 補助事業に係る成果物

(1)補助事業により作成したもの

該当なし

8 事業内容についての問い合わせ先

所属機関名： 大阪工業大学工学部(オオサカコウギョウダイガクコウガクブ)

住 所： 〒535-8585

大阪府大阪市旭区大宮5丁目16番1号

(オオサカフオオサカシアサヒクオオミヤ)

担 当 者： 横山奨(ヨコヤマショウ)

担 当 部 署： 工学部機械工学科(コウガクブキカイコウガクカ)

E - m a i l: sho.yokoyama@oit.ac.jp

U R L: <http://www.oit.ac.jp/med/~yokoyama/mflab/index.html>